

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Ruth Pamela Mauger Thompson

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA E PATOLÓGICA DA  
SÍNDROME CISTADENOCARCINOMA RENAL-DERMATOFIBROSE NODULAR  
EM CÃES PASTOR ALEMÃO**

Santa Maria, RS  
2019

**Ruth Pamela Mauger Thompson**

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA E PATOLÓGICA DA  
SÍNDROME CISTADENOCARCINOMA RENAL-DERMATOFIBROSE NODULAR  
EM CÃES PASTOR ALEMÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para a obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Glauca Denise Kommers

Santa Maria, RS  
2019

**Ruth Pamela Mauger Thompson**

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA E PATOLÓGICA DA  
SÍNDROME CISTADENOCARCINOMA RENAL-DERMATOFIBROSE NODULAR  
EM CÃES PASTOR ALEMÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para a obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

**Aprovado em 27 de fevereiro de 2019:**

---

**Glauca Denise Kommers, PhD (UFSM)**  
(Presidente/Orientadora)

---

**Cristina Gevehr Fernandes, Dra. (UFPeI)**

---

**Paula Cristina Basso, Dra. (UFSM)**

Santa Maria, RS  
2019

## DEDICATÓRIA

Ao meu marido Walter e minha filha porque sempre me deram seu apoio, incentivo e paciência. A minha orientadora Glaucia D. Kommers, por me dar a oportunidade de conhecer o mundo da patologia, por me ensinar com muita paciência e dedicação, estou mais que grata a ti. Eu vou levar uma parte da patologia para toda a minha vida. Muito obrigada professora!!!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiro a Deus por tudo, porque ele foi a minha fortaleza.

Agradeço a meu marido Walter Cardozo e minha filha Valeria Victoria Cardozo Mauger, pelo apoio incondicional que tive sempre de parte deles, pelo incentivo de ser melhor cada dia e não me deixar vencer por nada do mundo; amo vocês, são meus tesouros.

Agradeço a meus pais, pelo apoio.

Agradeço a minha sogra Maria Luisa Areco e meu sogro Jorge Cardozo, por todo o apoio incondicional e força que me deram, em todo momento.

Agradeço aos meus avós paternos e maternos, por todo o carinho incondicional que sempre me deram.

Agradeço de coração aos meus colegas de laboratório, Taiara, Harlan, Alex, Marcella, Bruna, Giulia, Tatiane, Flávia e Renata, que sempre me auxiliaram e permitiram que este trabalho fosse possível, muito obrigado pela amizade, paciência e apoio nesta etapa da minha vida patológica, estou feliz de ter a vocês como minha família.

A todos os estagiários do LPV, Stella, Eryca, Betina, Douglas, Alana, Amanda, Morgana, Nicolas e Luís, que sempre estiveram ajudando de alguma forma nestes anos no laboratório.

Aos professores do LPV - Glaucia Kommers, Mariana Flores, Luiz Francisco e Rafael Figuera, pelos ensinamentos, paciência e conhecimento repassados, todos foram importantes para meu crescimento profissional e pessoal.

Ao professor Daniel Muller por todo o carinho e paciência, pelo apoio incondicional que teve comigo.

Ao Programa de Pós-Graduação pela oportunidade e ao CNPq pelos recursos financeiros.

Agradeço em especial a minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Glaucia Kommers, pela oportunidade de conhecer o mundo patológico e por toda a paciência, carinho, amizade e conselhos durante toda a pós-graduação; sem dúvidas você foi importante para meu crescimento pessoal e profissional.

E muito obrigada às demais pessoas que contribuíram para este trabalho.

Muito obrigado por tudo!

*“Nunca considere o estudo como uma obrigação, mas como uma oportunidade para penetrar no belo e maravilhoso mundo do conhecimento.”*

Albert Einstein.

## RESUMO

### CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA E PATOLÓGICA DA SÍNDROME CISTADENOCARCINOMA RENAL-DERMATOFIBROSE NODULAR EM CÃES PASTOR ALEMÃO

AUTOR: Ruth Pamela Mauger Thompson  
ORIENTADORA: Glauca Denise Kommers

A síndrome cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular (CR-DN) é rara e afeta principalmente cães da raça Pastor Alemão. Esta doença é de herança autossômica dominante, causada por mutação do gene foliculina (*FLCN*), localizado no cromossomo 5 em cães. A síndrome caracteriza-se por apresentar cistadenomas e cistadenocarcinomas renais bilaterais, múltiplos nódulos na pele e tecido subcutâneo distribuídos em todo o corpo e leiomiomas uterinos. Neste estudo são descritos 11 casos da síndrome CR-DN em cães Pastor Alemão, diagnosticados entre janeiro de 1994 e janeiro de 2018 no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM). Os cães afetados foram oito machos e três fêmeas, estabelecendo-se uma relação de 2,67:1. A idade variou de seis a 12 anos, sendo a média de idade de 8,7 anos. Os principais sinais clínicos relatados foram, em ordem decrescente de frequência, múltiplos nódulos cutâneos (dermatofibrose nodular), dispneia, anorexia, emagrecimento, hematúria recorrente, vômito e polidipsia. Este estudo permitiu estabelecer que o reconhecimento clínico da síndrome nem sempre é fácil, porém suas características anátomo-patológicas peculiares permitem um diagnóstico com segurança. Histologicamente, foi possível detectar todas as fases (cistos, hiperplasia intratubular papilífera, cistadenomas e/ou cistadenocarcinomas) de um possível *continuum* patológico das lesões renais. Leiomiomas uterinos foram observados somente em um caso. Através das técnicas histoquímicas foi possível estabelecer que o colágeno tipo I está presente em ambas as lesões, cutâneas e renais, e cogitar seu possível envolvimento na patogênese dos cistadenocarcinomas renais. A técnica de IHQ mostrou resultados parcialmente satisfatórios na imunomarcagem das células epiteliais dos cistos e dos neoplasmas renais para pancitoceratina.

**Palavras-chave:** cistadenoma, cistadenocarcinoma, dermatofibrose nodular, síndrome hereditária, doenças de cães.

## ABSTRACT

### CLINICAL-EPIDEMIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE RENAL CYSTADENOCARCINOMA-NODULAR DERMATOFIBROSIS SYNDROME IN GERMAN SHEPHERD DOGS

AUTHOR: Ruth Pamela Mauger Thompson  
ADVISOR: Glaucia Denise Kommers

Renal cystadenocarcinoma -nodular dermatofibrosis (CR-DN syndrome) is rare and mainly affects dogs of the German Shepherd breed. This disease is of autosomal dominant inheritance, caused by a mutation of the folliculin gene (*FLCN*), and located on chromosome 5 in dogs. The syndrome is characterized by bilateral cystadenomas and cistadenocarcinomas, multiple nodules in the skin and subcutaneous tissue distributed throughout the body and uterine leiomyomas. This study describes 11 cases of CR-DN syndrome in German Shepherd dogs, diagnosed between January 1994 and January 2018 at the Laboratory of Veterinary Pathology of the Federal University of Santa Maria (LPV-UFSM). The affected dogs were eight males and three females, establishing a ratio of 2.67: 1. The age ranged from six to 12 years, with the mean age being 8.7 years. The main clinical signs reported were, in descending order of frequency, multiple skin nodules (nodular dermatofibrosis), dyspnea, anorexia, weight loss, recurrent hematuria, vomiting and polydipsia. This study allowed establishing that the clinical recognition of the syndrome is not always easy, but its peculiar anatomical-pathological characteristics allow a safe diagnosis. Histologically, it was possible to detect all phases (cysts, papillary intratubular hyperplasia, cystadenomas and / or cystadenocarcinomas) of a possible pathological *continuum* of the renal lesions. Uterine leiomyomas were observed in only one case. Through histochemical techniques, it was possible to establish that type I collagen is present in both cutaneous and renal lesions and to consider its possible involvement in the pathogenesis of renal cystadenocarcinomas. The IHC technique showed partially satisfactory results in the immunostaining of cysts epithelial cells and renal neoplasms for pancytokeratin.

Keywords: renal cystadenoma, renal cystadenocarcinoma, nodular dermatofibrosis, hereditary syndrome, diseases of dogs.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	12
3	ARTIGO –Caracterização clínico-epidemiológica, anátomo-patológica, histoquímica e imuno-histoquímica da síndrome cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular em 11 cães Pastor Alemão .....	20
4	CONCLUSÃO.....	36
	REFERÊNCIAS.....	37

## 1 INTRODUÇÃO

Os tumores renais primários são raros em cães (KOBAYASHI et al., 2008; SERAKIDES; FREITAS, 2017) e consistem em cerca de 1% do total das neoplasias descritas em cães. Estas neoplasias são geralmente classificadas como tumores epiteliais (75%), mesenquimais (25%) e nefroblastomas (5%) (MEUTEN; MEUTEN, 2017). As neoplasias renais são mais frequentes em gatos que em cães (BASKIN; De PAOLI, 1977; SERAKIDES; FREITAS, 2017).

No Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), foi realizado um levantamento de cães submetidos à necropsia no período de 1990 a 2010, no qual 113 cães (2,4%) tiveram diagnóstico de neoplasmas no sistema urinário, sendo 27 neoplasmas primários e 86 metastáticos ou como parte de tumores multicêntricos no sistema urinário. Treze casos eram neoplasmas primários renais, perfazendo 48,1% dos neoplasmas primários do sistema urinário e 0,27% sobre o total de cães necropsiados no período estudado (INKELMANN et al., 2012).

Neste contexto, uma condição que merece atenção especial é a síndrome cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular (CR-DN), que afeta principalmente cães da raça Pastor Alemão, por tratar-se de uma síndrome rara e causada por uma herança genética autossômica dominante (LIUM; MOE, 1895; MOE; LIUM, 1997). A síndrome afeta principalmente os rins, onde são observados múltiplos cistos e neoplasmas (cistadenomas e cistadenocarcinomas), e a pele e o tecido subcutâneo, onde são observados múltiplos nódulos, denominados de dermatofibrose nodular (COSENZA; SEELY, 1986; LIUM; MOE, 1895; MOE; LIUM, 1997). Não há predileção por sexo. A média de idade dos cães afetados é de 8,5 anos. Os sinais clínicos são perda de apetite, fraqueza, polidipsia, vômito, constipação ou diarreia e hematúria (COSENZA; SEELY, 1986; LIUM; MOE, 1985).

O objetivo principal deste estudo retrospectivo foi determinar a prevalência da síndrome CR-DN na rotina de necropsia no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) num período de 24 anos, bem como caracterizar aspectos clínico-epidemiológicos, anátomo-patológicos, histoquímicos e imuno-histoquímicos desta síndrome em cães Pastor Alemão. A metodologia, resultados, discussão e conclusões que fazem parte desta dissertação

serão apresentados na forma de um artigo científico (disponível no Capítulo 3) a ser submetido para publicação na revista Pesquisa Veterinária Brasileira.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 NEOPLASIAS RENAIIS

O desenvolvimento de neoplasias renais primárias em animais domésticos é incomum, perfazendo aproximadamente 1% dos tumores diagnosticados nestas espécies (BRESHEARS; CONFER, 2018; MEUTEN; MEUTEN, 2017). Em um estudo avaliando 113 caninos, os tumores primários foram diagnosticados em 23,9% dos casos (27 casos) e 76,1% dos casos (86 casos) corresponderam a tumores metastáticos / multicêntricos que afetaram o sistema urinário. Os órgãos mais acometidos, em ordem decrescente de frequência neste estudo foram, os rins, a vesícula urinária, os ureteres e a uretra (INKELMANN et al., 2012). Esses dados vão ao encontro aos citados na literatura, onde a maioria das neoplasias renais são metastáticas, sendo estes por disseminação hematológica ou linfática (CIANCIOLO, et al., 2016).

Os tumores do trato urinário podem desenvolver-se de células de origem epitelial, mesenquimal e embrionária (BRESHEARS; CONFER, 2018; MEUTEN; MEUTEN, 2017). Aproximadamente 60 a 85% dos tumores são de origem epitelial e 25% mesenquimal. É importante ressaltar, que a forma maligna (carcinoma) é a mais frequente em caninos, felinos e equinos, já a forma benigna (adenoma) é mais comum nos bovinos (MEUTEN; MEUTEN, 2017).

O carcinoma renal, a neoplasia primária mais comumente observada em caninos, tem como células de origem as células epiteliais dos túbulos contorcidos proximais ou distais e/ou do ducto coletor (MEUTEN; MEUTEN, 2017). Em humanos, algumas causas específicas para a ocorrência de adenocarcinoma são bem conhecidas, diferentemente dos animais onde há poucos estudos (BRESHEARS; CONFER, 2018). Alguns mecanismos etiopatogênicos já foram comprovados em animais utilizando modelos experimentais ou na doença natural incluindo agentes virais, químicos carcinogênicos e mutações genéticas (BRESHEARS; CONFER, 2018).

Na medicina veterinária um tumor primário que merece destaque é o cistadenocarcinoma renal. Este tumor é importante, pois em alguns casos, os animais acometidos podem desenvolver uma condição especial em que múltiplos nódulos cutâneos desenvolvem-se concomitantemente com o tumor renal, sendo conhecida como síndrome cistadenocarcinoma renal e dermatofibrose nodular (LANGOHR et al., 2002; MEUTEN; MEUTEN 2017). Esta síndrome é de origem

hereditária autossômica dominante e ocorre principalmente em cães Pastor Alemão, e em menor frequência em Golden Retriever, raças mistas e boxer (MARKS et al., 1993; WHITE et al., 1998).

## 2.2 ASPECTOS GERAIS DA SÍNDROME CISTADENOCARCINOMA RENAL-DERMATOFIBROSE NODULAR

A síndrome cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular (CR-DN) é uma doença hereditária, única e rara, que afeta principalmente cães da raça Pastor Alemão (GARDINER et al., 2008; LIUM; MOE, 1985; MOE; LIUM 1997; WHITE et al., 1998). Há relatos escassos da síndrome em cães das raças Golden Retriever, Boxer e em cães mestiços (MARKS et al., 1993; WHITE et al., 1998).

Os cães afetados apresentam rins com múltiplos cistos bilaterais que variam de tamanho e podem progredir de cistos a hiperplasias, cistadenomas e/ou cistadenocarcinomas (GARDINER et al., 2008; LIUM; MOE, 1985; MOE; LIUM, 1997; WHITE et al., 1998). Concomitantemente às alterações renais, esses cães têm múltiplos nódulos na derme e no tecido subcutâneo (dermatofibrose) e, no caso das fêmeas, podem ter leiomiomas uterinos (GARDINER et al., 2008; LIUM; MOE, 1985; MOE; LIUM, 1997; WHITE et al., 1998).

### 2.2.1 Etiopatogênese

A síndrome CR-DN é uma doença hereditária causada por mutações no gene foliculina (*FLCN*) (JONASDOTIR et al., 2000; LIINGAS et al., 2003), localizado no cromossomo 5 e tem um modo dominante de herança. Acredita-se que o gene *FLCN* atue como um gene supressor tumoral, e sua inativação é um dos passos críticos no desenvolvimento da doença.

Após ter sido identificado em cães, esse defeito genético foi identificado em humanos e resulta na síndrome conhecida como Birt – Hogg–Dubé (BHD) (BONDSFORD et al., 2009; LIINGAS et al., 2003; LIUM; MOE, 1985). No Pastor Alemão, o gene mapeado se localiza no mesmo locus observado em humanos portadores da síndrome BHD, levando a crer que o mesmo gene seja responsável por ambas as condições (BONDSFORD et al., 2009; LIINGAS et al., 2003).

Em humanos, a síndrome BHD é caracterizada por herança autossômica dominante e causada pela mutação do gene foliculina, afetando o cromossomo 17p (LETER et al., 2008; SCHMIDT et al., 2001). Na pele, os pacientes apresentam

tumores benignos, tais como fibrofoliculomas. Diferentemente dos cães, em humanos a síndrome pode acometer os pulmões na forma de múltiplos cistos pulmonares e pneumotórax (SCHMIDT et al., 2001). Nos rins, os tipos histológicos mais comuns são oncocitoma, carcinoma cromóforo e carcinoma cromóforo oncocítico (LOPEZ et al., 2011). Leiomiomas uterinos não são relatados. Os homens são mais comumente afetados, e a prevalência da doença é maior em pacientes geriátricos (PRESLER et al., 2009). Entretanto, as lesões podem aparecer após os 20 anos de idade (MENKA et al., 2009).

White et al. (1998) cogitou duas teorias para explicar como ocorre a dermatofibrose nodular e a doença cística renal em cães Pastor Alemão. A primeira hipótese é que a dermatofibrose nodular seja uma síndrome paraneoplásica, secundária à neoplasia renal. Outra teoria é que podem ser duas doenças diferentes que ocorrem independentemente, mas que estejam ligadas ao mesmo mecanismo hereditário comum. Tendo em vista a fibrose observada nos rins e na pele, White et al. (1998) propuseram uma terceira teoria de início concomitante da fibrose na pele e no rim; a fibrose renal causaria obstrução ao fluxo dos túbulos, com consequente expansão e eventual formação de cistos nos túbulos renais. Isso poderia influenciar na progressão de um *continuum* patológico de cistos a hiperplasias, cistadenomas e cistadenocarcinoma renais, os quais poderiam ser influenciados por fatores genéticos.

### **2.2.2 Epidemiologia**

Os primeiros casos de cistadenocarcinomas com dermatofibrose nodular foram relatados por Suter et al. (1983) em cães da raça Pastor Alemão. Inicialmente, essa condição foi denominada de “dermatofibrose nodular generalizada”. Outros autores também descreveram a ocorrência de cistadenocarcinomas e cistadenomas associados à dermatofibrose nodular em cães sem raça definida (SRD) e das raças Boxer e Golden Retriever (MARKS et al., 1993; WHITE et al., 1998).

Alguns estudos têm demonstrado variações na média de idade entre 7,1 a 8,5 anos para ocorrência dessa síndrome (LIUM; MOE, 1985; LUCKE; KELLY, 1976; MOE; LIUM, 1997). Vale ressaltar que lesões pré-neoplásicas renais foram descritas em cães jovens, com menos de um ano de idade (MOE et al., 2000). No estudo de Bondsford et al. (2009), oito filhotes com 6 a 8 semanas de vida, foram diagnosticados com cistadenocarcinomas e dermatofibrose nodular. De acordo com

Meuten e Meuten (2017), esse neoplasma tem sido mais frequentemente descrito em fêmeas. Contudo, alguns autores apontam que não há predileção sexual para sua ocorrência (LIUM; MOE, 1985; LUCKE; KELLY, 1976).

### **2.2.3 Aspectos clínicos**

Os aspectos clínicos são inespecíficos e variam de um animal a outro. O que geralmente leva os cães à consulta veterinária são os nódulos de pele, que são múltiplos e firmes (MOE; LIUM, 1997). Além disso, os rins dos cães se apresentam aumentados de tamanho unilateralmente ou bilateralmente (LIUM; MOE, 1997; MARKS et al., 1993; MEUTEN; MEUTEN, 2017; MOE; LIUM, 1985; WHITE et al., 1998).

Os animais podem apresentar dor abdominal, massas abdominal palpáveis e manifestações clínicas relacionadas à insuficiência renal (PRESLER et al., 2009). Tais sinais consistem em perda de apetite, fraqueza, polidipsia, vômito, constipação ou diarreia e hematúria (COSENZA; SEELY, 1986, LIUM; MOE, 1985). A síndrome se desenvolve lentamente e de maneira insidiosa ao longo da vida do animal (LIUM; MOE, 1997).

### **2.2.4 Aspectos macroscópicos**

Os cães que desenvolvem a síndrome apresentam os rins bilateralmente aumentados de tamanho, com superfície irregular e com formação de cistos e/ou tecido neoplásico. Langohr et al. (2002) relatam em seu estudo variação de 16x12x5 cm a 30x22x7 cm nos rins de dois cães acometidos por essa síndrome. Cada rim pode apresentar cistos de 0,5 cm diâmetro ou maiores, podendo ser únicos ou múltiplos, distribuídos em toda a superfície renal, tanto na região cortical como na medular. A cápsula pode estar fibrosa e espessada. Frequentemente, no interior dos pequenos cistos, observa-se conteúdo líquido claro e nos cistos maiores o conteúdo é marrom-escuro e/ou vermelho-escuro, devido às áreas de necrose. Além do conteúdo líquido, alguns cistos podem apresentar pequenas a grandes massas brancacentas, que correspondem a parte sólida do tumor, que substituiu parcialmente ou completamente o parênquima normal (LANGOHR et al., 2002; LIUM; MOE, 1985; MOE; LIUM, 1997).

Outro achado macroscópico relativamente frequente em cães com cistadenocarcinoma é o hemoperitônio e/ou peritonite, decorrentes da ruptura dos

cistos e conseqüentemente extravasamento de conteúdo para a cavidade abdominal (LANGOHR et al., 2002; MEUTEN; MEUTEN, 2017). Nestes casos, metástases por implantação em órgãos abdominais, podem ser observadas. Outros órgãos em que podem ocorrer metástases incluem linfonodos, peritônio, pleura, fígado, baço, pulmão e ossos (CIANCIOLO et al., 2016; LIUM; MOE, 1985; MEUTEN; MEUTEN, 2017).

Os nódulos cutâneos podem ser únicos ou múltiplos, multifocais a coalescentes, com tamanho variando de 0,2 à 3 cm de diâmetro, recobertos por pele e pelos, ou apresentar superfície ulcerada (LIUM; MOE, 1985). Quanto à localização, os nódulos podem desenvolver-se tanto na derme superficial como na derme profunda e no tecido subcutâneo. Segundo a literatura, a cabeça, os membros e o dorso são os locais mais predispostos para o desenvolvimento dos tumores cutâneos (COSENZA; SEELY, 1986; LIUM; MOE, 1985). Langohr et al. (2002) observaram em seu estudo que nos quatro cães com a síndrome CR-DN, os nódulos cutâneos desenvolveram-se principalmente nos membros pélvicos. Além disso, em um cão, foi observado edema subcutâneo difuso, por vezes entremeado a áreas brancacentas no membro posterior direito. Embora todos os casos de cistadenocarcinoma renal apresentem a síndrome dermatofibrose nodular, há um relato de caso onde foi observada dermatofibrose nodular com ausência de cistadenocarcinoma renal (GARDINER et al., 2008).

Além dos nódulos cutâneos, as fêmeas com a síndrome CR-DN, podem apresentar nódulos firmes, brancacentos ou amarelados na parede uterina. Estes nódulos podem estar confinados a mucosa ou projetar-se para a serosa e correspondem a leiomiomas uterinos (LIUM; MOE, 1985).

### **2.2.3 Aspectos microscópicos**

Cistos renais microscópicos podem ser detectados em cães jovens com predisposição hereditária para desenvolverem a síndrome CR-DN. Dessa forma podem representar um achado precoce dessa síndrome (MOE et al., 2000). No córtex renal, podem ser observados vários cistos, de diferentes tamanhos, como também áreas de hiperplasia tubular multifocal, por vezes com proliferações displásicas e formações neoplásicas (constituídas por células epiteliais tubulares), que aumentam de tamanho com a idade (LIUM; MOE, 1985; MOE; LIUM, 1997; WHITE et al., 1998).

Em áreas do córtex observam-se proliferações multifocais hiperplásicas a displásicas e transformação neoplásica de células epiteliais tubulares renais (cistadenomas e/ou cistadenocarcinomas). Nessas proliferações epiteliais, túbulos renais formam pequenas dilatações irregulares com transição para cistos, recobertas com epitélio cuboide a cilíndrico e projeções papilares para o interior do lúmen. Muitas células nessas proliferações lembram células normais, porém há muitas células aumentadas de volume, com citoplasma eosinofílico e núcleos grandes, com nucléolos proeminentes. Mitoses são escassas e há células binucleadas e multinucleadas. Algumas células têm vacúolos peculiares e pequenos cistos em seus citoplasmas. As células podem ser indiferenciadas, variando entre fusiformes a grandes células anaplásicas com núcleos grandes. Há também neoplasmas com áreas epiteliais sólidas. Na superfície interna dos cistos há áreas de necrose e áreas de hemorragia. Há fibrose intratumoral e infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos e, por vezes, de neutrófilos (LIUM; MOE, 1985).

Na pele, a maioria dos nódulos são cutâneos e subcutâneos, os quais podem se apresentar como feixes irregulares densos de colágeno e com poucos fibrócitos. Os nódulos de dermatofibrose geralmente não tem delimitação do tecido conjuntivo circunjacente (COSENZA; SEELY, 1986; GARDINER et al., 2008; LIUM; MOE, 1895, WHITE et al., 1998).

No útero, os leiomiomas consistem de proliferação de células neoplásicas constituídas de fibras musculares lisas, as quais se arranjam em feixes entrelaçados com núcleos característicos (em forma de charutos). Mitoses são incomuns (LIUM; MOE, 1985; MOE; LIUM, 1997, WHITE et al., 1998).

### **2.2.6 Diagnóstico**

Atualmente, os principais exames disponíveis para avaliação renal dos animais domésticos são os exames de radiografia, tomografia computadorizada e ecografia. Sabe-se que o melhor exame disponível é a tomografia computadorizada, que apresenta uma ampla visão de campos e de excelente imagem anatômica dos rins. Esta ferramenta permite detectar diferenças na atenuação do raio-X, sendo um método excelente para distinguir entre um neoplasma e um cisto (MOE; LIUM, 1997). A técnica é útil para a detecção de cistadenocarcinomas renais e para triagem em animais suspeitos antes da reprodução (MOE; LIUM, 1997).

Embora a tomografia computadorizada seja o melhor método, salienta-se que está técnica infelizmente não está disponível na grande maioria dos centros de diagnósticos. Em nossa realidade, o exame radiográfico é o de mais fácil acesso. Entretanto, essa ferramenta nem sempre é suficiente para estabelecer um diagnóstico de doença renal. A ultrassonografia abdominal é outra técnica relativamente barata que pode auxiliar no diagnóstico de doenças renais e auxiliar na detecção de cistos renais precocemente (MOE; LIUM, 1997; WHITE et al., 1998), relatam em seu trabalho que através do exame ultrassonográfico, juntamente com a presença de nódulos cutâneos, foi possível sugerir que os cães apresentavam a síndrome CR-DN.

#### 2.2.6.1. Técnicas histoquímicas

A análise histológica é o principal método diagnóstico *post mortem* para a síndrome CR-DN (MOE; LIUM, 1997; LANGOHR et al., 2002). Além da histologia, a utilização de colorações histoquímicas e o uso da imuno-histoquímica estão sendo empregadas para complementar o diagnóstico. O Tricrômico de Masson é empregado para melhor visualização das fibras de colágeno, que neste caso irão corar em azul forte. Já o Picrosirius Red é utilizado para tipificação do colágeno, sendo fundamental para diferenciação do colágeno tipo I do tipo III. Com esta coloração histoquímica, sob luz polarizada, as fibras de colágeno tipo I são coradas em amarelo e/ou alaranjadas e/ou avermelhadas, e as fibras de colágeno tipo III são coradas em verde (WHITTAKER et al., 1994).

A importância de diferenciar estes dois tipos de colágeno é que o colágeno tipo I foi associado com a proliferação de células neoplásicas em câncer pancreático de humanos e observou-se também que a reação desmoplásica, por meio do colágeno, promoveu um fenótipo maligno das células neoplásicas, resultando em pior prognóstico para o hospedeiro (ARMSTRONG et al., 2004). Além disso, o papel atribuído ao colágeno na reação desmoplásica tem sido um pouco contraditório, indo desde funcionar como barreira para a invasão tumoral até uma associação de sua maior expressão com um pior prognóstico e aumento da metastatização em neoplasias de humanos (SHIELDS et al., 2011).

#### 2.2.6.2 Imuno-histoquímica

Em um relato de casos se utilizou a técnica de imuno-histoquímica (IHQ) contra um amplo espectro de citoceratinas (incluindo CKs 10, 17 e 18). Houve imunomarcção para citoceratina nos túbulos renais neoplásicos e na parede interna dos cistos (MOE et al., 2000).

A forte marcação de citoceratina no epitélio que reveste os cistos renais em todos os três cães testados indica que o epitélio tinha uma origem tubular distal ou de ductos coletores, porque as células tubulares epiteliais distais normais apresentaram forte marcação para citoceratina, enquanto as células tubulares proximais normais apresentaram marcação fraca, quando houve (MOE et al., 2000).

### **2.2.7 Profilaxia e tratamento**

É recomendado não utilizar para reprodução os animais que tenham a síndrome. Há somente tratamentos sintomáticos, mais nenhum tratamento específico para a síndrome CR-DN (LIUM; MOE, 1985; BONDSFORD et al., 2009; MOE et al., 2000).

A nefrectomia unilateral foi realizada em quatro cães quando o aumento renal afetou principalmente um rim. A nefrectomia reduziu o sofrimento para o cão aliviando a pressão sobre outros órgãos abdominais. A avaliação da função renal pré-cirúrgica baseou-se na nefrografia excretora e na concentração sérica de creatinina. Em cães com ascite e peritonite resultantes de cistos rompidos, tratamento de suporte, como fluidos intravenosos e corticosteroides foram administrados e paracentese abdominal foi realizada. Transplante renal não é recomendado como forma para o tratamento de cães com essa condição neoplásica por razões éticas e práticas. A ovário-histerectomia foi realizada em dois cães com grandes tumores uterinos (LIUM; MOE, 1997).

### 3 ARTIGO –

#### Caracterização clínico-epidemiológica, anátomo-patológica, histoquímica e imuno-histoquímica da síndrome cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular em 11 cães Pastor Alemão<sup>1</sup>

Ruth Pamela Mauger Thompson<sup>2</sup>, Eryca Ceolin Lamego<sup>3</sup>, Stella Maris Pereira de Melo<sup>2</sup>, Luiz Francisco Irigoyen<sup>4</sup>, Rafael Almeida Figuera<sup>4</sup> & Glauca Denise Kommers<sup>4\*</sup>

**ABSTRACT.** – Thompson R. P. M., Lamego, E. C., Melo, S. M. P., Irigoyen L. F., Figuera R. A. & Kommers G. D. 2018. [Clinical-epidemiological, anatomic-pathological, histochemical and immunohistochemical characterization of the nodular cystadenocarcinoma-dermatofibrosis syndrome in 11 German Shepherd dogs] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS, 97105-900, Brazil. E-mail: [glaukommers@yahoo.com](mailto:glaukommers@yahoo.com)

Eleven cases of cystadenoma/cystadenocarcinoma-nodular dermatofibrosis syndrome (CR-ND) are described in German Shepherd dogs, diagnosed between January 1994 and January 2018 at the Laboratório de Patologia Veterinária of the Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM). The affected dogs were eight males and three females, establishing a ratio of 2.67:1. The age ranged from six to 12 years, with the mean age being 8.7 years. The main clinical signs reported were, in descending order of frequency, multiple cutaneous nodules (nodular dermatofibrosis), dyspnea, anorexia, weight loss, recurrent hematuria, vomiting and polydipsia. This study allowed to establish that the clinical recognition of the syndrome is not always easy, but its peculiar anatomical-pathological characteristics allow a safe diagnosis. Histologically, it was possible to detect all phases (cysts, papillary intratubular hyperplasia, cystadenomas and/or cystadenocarcinomas) of a possible pathological *continuum* of the renal lesions. Uterine leiomyomas were observed in only one case. Through histochemical techniques, it was possible to establish that type I collagen is present in both cutaneous and renal lesions and to consider its possible involvement in the pathogenesis of renal cystadenocarcinomas. The IHC technique showed partially satisfactory results in the immunostaining of cysts epithelial cells and renal neoplasms for pancytokeratin.

**INDEX TERMS:** renal cystadenoma, renal cystadenocarcinoma, nodular dermatofibrosis, hereditary syndrome, diseases of dogs.

**RESUMO.** – São descritos 11 casos da síndrome cistadenoma/cistadenocarcinoma-dermatofibrose nodular (CR-DN) em cães Pastor Alemão, diagnosticados entre janeiro de 1994 e janeiro de 2018 no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM). Os cães afetados foram oito machos e três fêmeas, estabelecendo-se uma relação de 2,67:1. A idade variou de seis a 12 anos, sendo a média de idade de 8,7 anos. Os principais sinais clínicos relatados foram, em ordem decrescente de frequência, múltiplos nódulos cutâneos (dermatofibrose nodular), dispnéia, anorexia, emagrecimento, hematúria recorrente, vômito e polidipsia. Este estudo permitiu estabelecer que o reconhecimento clínico da síndrome nem sempre é fácil, porém suas características anátomo-patológicas peculiares permitem um diagnóstico com segurança. Histologicamente, foi possível detectar todas as fases (cistos, hiperplasia intratubular papilífera, cistadenomas e/ou cistadenocarcinomas) de um possível *continuum* patológico das lesões renais. Leiomiomas uterinos foram observados somente em um caso. Através das técnicas histoquímicas foi possível estabelecer que o colágeno tipo I está presente em ambas as lesões, cutâneas e renais, e cogitar seu possível envolvimento na patogênese dos cistadenocarcinomas renais. A técnica de IHQ mostrou resultados parcialmente satisfatórios na imunomarcagem das células epiteliais dos cistos e dos neoplasmas renais para pancitoceratina.

<sup>1</sup> Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia e Patologia Clínica Veterinária, Centro de Ciência Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

<sup>3</sup> Curso de Medicina Veterinária, CCR, UFSM.

<sup>4</sup> Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM.

\*Autor para correspondência: [glaukommers@yahoo.com](mailto:glaukommers@yahoo.com)

TERMOS DE INDEXAÇÃO: cistadenoma renal, cistadenocarcinoma renal, dermatofibrose nodular, síndrome hereditária, doenças de cães.

### INTRODUÇÃO

Uma síndrome rara, caracterizada por cistadenomas/cistadenocarcinomas bilaterais e multifocais renais, dermatofibrose nodular e leiomiomas uterinos, tem sido relatada principalmente em cães da raça Pastor Alemão (Lium & Moe 1985, Moe & Lium 1997), a qual é causada por mutações do gene *foliculina* (*FLCN*, previamente denominado gene *BHD*), localizado no cromossomo 5 e tem um modo dominante de hereditariedade (Lingaas et al. 2003, Pressler et al. 2009, Bonsdorff et al. 2009). A inativação desse gene supressor tumoral é um dos passos críticos nessa doença (Bonsdorff et al. 2009). Esta síndrome tem sido também esporadicamente relatada em cães Boxer e em mestiços (White et al. 1998) e no Golden Retriever (Marks et al. 1993).

Os sinais clínicos variam muito entre os cães dependendo da idade e do estágio da doença quando o cão é examinado (Moe & Lium 1997). Geralmente incluem numerosos nódulos cutâneos e subcutâneos firmes, distensão abdominal, rins muito aumentados de tamanho (pela palpação), anorexia, fraqueza, perda progressiva de peso, polidipsia, vômitos, constipação ou diarreia (Lium & Moe 1985).

As lesões macroscópicas observadas na necropsia são múltiplos nódulos cutâneos firmes e esféricos na pele e subcutâneo. Podem se distribuir em todo o corpo, mas com predileção acentuada pelos membros, cabeça e dorso (Suter et al. 1983, Lium & Moe 1985, Moe & Lium 1997). Nos rins, as lesões são bilaterais, múltiplas e císticas, contendo um fluido gelatinoso, límpido ou marrom-avermelhado, muitas vezes com áreas de necrose. Os cistos podem romper e liberar o conteúdo na cavidade peritoneal. (Lium & Moe 1985, Meuten & Meuten 2017). As fêmeas afetadas também costumam ter vários leiomiomas uterinos (Cianciolo & Mohr 2016). Histologicamente, a lesão cutânea é denominada dermatofibrose nodular e nos rins, cistadenomas ou cistadenocarcinomas podem ser observados (Lium & Moe 1985).

A maioria dos livros-texto em medicina veterinária (Cianciolo & Mohr 2016, Breshears & Confer 2017, Serakides & Silva 2017) trazem geralmente poucas informações genéricas sobre a síndrome cistadenoma/cistadenocarcinoma-dermatofibrose nodular (CR-DN) e a maior parte da literatura descreve essa síndrome em outros países, havendo pouca informação na literatura nacional sobre sua prevalência e características de apresentação (Langohr et al. 2002, Inkelmann et al. 2012), o que é importante para o diagnóstico e conhecimento da ocorrência desta doença no país.

Os principais objetivos deste estudo retrospectivo foram determinar a prevalência da síndrome CR-DN na rotina de necropsias do LPV-UFSM, bem como caracterizar os aspectos clínico-epidemiológicos, anátomo-patológicos, histoquímicos e imuno-histoquímicos desta síndrome em cães Pastor Alemão na região Central do Rio Grande do Sul.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os protocolos de necropsias de cães, realizadas entre janeiro de 1994 e janeiro de 2018, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM), foram revisados em busca de casos com lesões cutâneas e renais compatíveis com as descritas para a síndrome cistadenoma/cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular (CR-DN) em cães da raça Pastor Alemão. O total de cães Pastor Alemão necropsiados nesse período também foi computado. Os casos 1 a 4 e 1-6 da síndrome CR-DN, computados neste estudo, fizeram parte dos levantamentos de Langohr et al. (2002) e Inkelmann et al. (2011), respectivamente.

Desses protocolos de necropsias foram retiradas informações referentes ao sexo e idade dos cães. Quanto à idade, os cães foram divididos em três categorias, conforme publicado anteriormente (Figuera et al. 2008): filhotes (com menos de 1 ano de idade), adultos (de 1 a 9 anos de idade) e idosos (10 anos de idade ou mais).

Os sinais clínicos, desfecho dos casos (morte espontânea ou eutanásia), achados macroscópicos (padrão das lesões de dermatofibrose, incluindo quantidade, tamanho, distribuição e presença de ulceração nos nódulos cutâneos; tamanho, localização, distribuição e características das lesões renais e presença de metástases) e achados microscópicos também foram computados. Outras lesões relacionadas, tais como lesões uterinas e extra-renais de uremia, também foram anotadas.

Quanto às lesões macroscópicas, os dados foram computados a partir das descrições presentes nos laudos, complementadas por observações do arquivo de fotografias dos casos. Quanto à avaliação histopatológica, consideraram-se os aspectos descritos nos laudos de necropsias e, dependendo da disponibilidade de tecidos emblocados em parafina, foram avaliadas novas seções histológicas (coradas pela hematoxilina-eosina), a partir do arquivo de blocos do LPV-UFSM.

As lesões renais e cutâneas, dependendo da disponibilidade de tecidos parafinizados, foram avaliadas através das técnicas histoquímicas do Tricrômico de Masson (TM; kit EasyPath Tricrômio de Masson, EP-11-20013) e do Picrossírius Red (PR; kit EasyPath Picrossírius-Hematoxilina, EP-11-20011) para melhor evidência e tipificação do colágeno, respectivamente. Pelo TM, as áreas colagenizadas coram-se em azul. Pelo PR, sob luz polarizada, o colágeno tipo 1 é observado como fibras densas amarelas, alaranjadas ou vermelhas e o colágeno tipo 3 como fibras finas e verdes (Whittaker et al. 1994).

As lesões renais foram também avaliadas através da técnica de imuno-histoquímica (IHQ), utilizando o anticorpo (Ac) policlonal anti-pancitocerotina bovina (Dako Cytomation; código Z-0622) produzido em coelho (1:2.000). Foram utilizadas lâminas silanizadas com seções histológicas de 3µm. Após a desparafinização e reidratação dos tecidos, foi feita a recuperação antigênica com TRIS-EDTA em pH 9,0, seguido por bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 3%. O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado com bloqueador de proteína (kit EasyPath, EP-12-20504). A incubação com o Ac primário foi na estufa por 60 min a 37°C em câmara úmida. O Ac secundário foi o polímero Easy Link One (kit EasyPath, EP-12-20504) incubado em estufa à 25°C. O substrato-cromógeno foi o tetracloro de 3-3'diaminobenzidina (DAB; kit EasyPath, EP-12-20504). As seções foram contra-coradas com hematoxilina de Harris, desidratadas e montadas com resina sintética (Entellan, Merck) e lamínulas. Utilizou-se como controle positivo amostra de carcinoma de células escamosas do trato alimentar de bovino. Como controle negativo, foram utilizadas as mesmas seções a serem testadas, com a substituição do anticorpo primário por diluente de anticorpo.

## RESULTADOS

### Aspectos epidemiológicos e clínicos

O número total de cães necropsiados no período compreendido por este levantamento foi de 6.231, sendo 2.958 cães machos e 3.271 cães fêmeas. Desse total de cães, 379 foram da raça Pastor Alemão, sendo 208 machos (54,89%) e 171 fêmeas (45,11%). Dos 379, 11 (2,9%) cães Pastor Alemão foram diagnosticados com lesões compatíveis com a síndrome CR-DN. Os casos foram distribuídos cronologicamente: dois em 1994, dois em 1996, um em 2005, um em 2010, um em 2011, dois em 2012, um em 2015 e um em 2018. Os aspectos epidemiológicos e clínicos estão detalhados no Quadro 1. Os cães afetados foram oito machos (80%) e três fêmeas (30%), estabelecendo-se uma relação de 2,67:1. Das três fêmeas, duas eram inteiras. A idade dos cães afetados variou de seis a 12 anos. Em um caso, a idade não foi informada. Dos 10/11 cães em que a idade constava nos protocolos, 7 (70%) foram classificados como adultos e 3 (30%) como idosos. A média de idade foi de 8,7 anos e a mediana foi de 8,5 anos.

Os principais sinais clínicos relatados nos históricos foram, em ordem decrescente de frequência, múltiplos nódulos cutâneos (4/11 [36,36%]), dispneia (3/11 [27,27%]), anorexia (2/11 [18,18%]), emagrecimento progressivo (2/11 [18,18%]), hematúria recorrente (2/11 [18,18%]) e vômito (2/11 [18,18%]). Sete cães (7/11 [63,63%]) tiveram morte espontânea e quatro (4/11 [36,36%]) foram submetidos à eutanásia.

### Alterações macroscópicas

Na necropsia, os rins estavam geralmente aumentados e apresentavam um contorno irregular causado pela presença de cistos firmes ou flutuantes e/ou tecido neoplásico nodular que protraíam na superfície capsular (Fig.1 e 2). O detalhamento desses aspectos em cada cão encontra-se no Quadro 2. Os rins dos 11 cães estavam bilateralmente afetados. Em 10 casos (cães 1-9 e 11) havia cistos e neoplasmas em ambos os rins. Em um caso (cão 10), o rim esquerdo tinha cistos e neoplasma, porém, o rim direito tinha somente cistos pequenos.

Na superfície de corte dos rins havia desde cistos de poucos milímetros de diâmetro (geralmente preenchidos por líquido límpido) (Fig.3) até grandes cavidades císticas (com até 15 cm de diâmetro e contendo líquido límpido, marrom-avermelhado, marrom-escuro ou coágulos) (Fig.4), que substituíam grande parte do parênquima renal, afetando as regiões cortical (principalmente), medular e a pelve (menor frequência). Na maioria dos casos, as cavidades císticas eram também preenchidas por um tecido neoplásico escasso ou abundante, vermelho-escuro ou marrom-escuro, poroso e extremamente friável (com aspecto necrótico) (Fig.5 e 6). Raramente (cães 4, 8 e 11) havia também massas neoplásicas sólidas e brancacentas. A cápsula das cavidades císticas era geralmente fibrosa e firme (Fig.6). Em três casos (cães 4, 7 e 8) houve ruptura de cistos, com extravasamento de conteúdo e/ou hemorragia para a cavidade abdominal (hemoperitônio). No caso 8 também foi descrita peritonite.

As lesões cutâneas foram observadas nas necropsias dos 11 cães. As características macroscópicas das lesões cutâneas em cada caso estão detalhadas no Quadro 3. Em nove casos as lesões eram múltiplas e numerosas, afetando mais de uma área corporal. Em um caso (cão 10) havia poucos nódulos e, somente em um caso (cão 1), um único nódulo foi observado. As lesões nodulares se distribuíam, em ordem

decrecente de frequência, membros posteriores (9/11 [81,81%]) (Fig.7), membros anteriores (8/11 [72,72%]), cabeça (3/11 [27,27%]) (Fig.8) e tronco (2/11 [18,18%]).

Essas lesões foram observadas como pápulas (<1 cm) ou nódulos (>1 cm). Em vários casos, as lesões nodulares localizavam-se bem próximas umas das outras, por vezes coalescendo e formando massas/placas maiores. As lesões eram alopecicas ou não e, por vezes, ulceradas (quatro casos). A superfície epidérmica era enegrecida em vários casos. Ao corte, observou-se que as lesões nodulares localizavam-se na derme (Fig.9) ou no tecido subcutâneo (Fig.10) e eram firmes (fibrosas) e brancas na maioria dos casos. Ocasionalmente foram descritas como lesões macias.

No cão 8, havia dois nódulos protraídos na serosa do corpo uterino (Fig.11), com 0,3 e 0,6 cm de diâmetro. Eram lisos e amarelados. Ao corte eram pouco firmes e homogêneos. Achados adicionais associados à síndrome foram nódulos tumorais (interpretados como metastáticos) esbranquiçados firme-elásticos no fígado e baço (cão 4). No cão 10, próximo ao estômago (piloro), havia uma massa fibrosa no omento e este estava transformado em uma cápsula fibrosa que envolvia todo o intestino, causando seu plissamento e o encolhimento das alças intestinais (Fig.12). Havia também pequenos nódulos na pleura costal (e efusão pleural); o pulmão tinha áreas retraídas na pleura e o fígado estava com bordos arredondados (em consequência de retração acentuada da cápsula). Lesões extra-renais de uremia foram descritas no cão 1 (pneumopatia) e no cão 2 (gastropatia, pneumopatia e hiperplasia de paratireoide). Na vesícula urinária foram descritas urina vermelho-achocolatada (cão 1) ou vermelho-escura (cães 8 e 9).

### **Alterações microscópicas**

As alterações histológicas renais eram multifocais, afetavam as regiões cortical e/ou medular, e eram constituídas por cistos epiteliais discretos (Fig.13), áreas de hiperplasia intratubular papilífera (Fig.13), cistadenomas e/ou cistadenocarcinomas (Fig.14). A presença dessas lesões em cada caso está detalhada no Quadro 4. Nos 11 cães havia múltiplos cistos pequenos que eram constituídos por uma parede fina e revestidos internamente por uma camada de células epiteliais, semelhantes ao epitélio tubular normal, porém geralmente alongadas e planas (interpretado como devido à distensão da parede por fluido [não corado]). Em seis casos havia algumas formações císticas que eram internamente revestidas por um epitélio cúbico alto, por vezes com duas a três camadas de células ou formando projeções papilíferas discretas (hiperplasia intratubular papilífera). Em três casos, na parede de algumas estruturas císticas, havia proliferação papilífera moderada e acentuada de células epiteliais neoplásicas bem diferenciadas, com citoplasma abundante e eosinofílico. O núcleo dessas células era único, central e com um único nucléolo (cistadenomas). Os cistadenocarcinomas eram caracterizados por estarem geralmente contidos em uma estrutura cística maior, com parede espessa e fibrosa e revestida internamente por células epiteliais neoplásicas cuboidais ou poliédricas, arranjadas em padrão papilífero irregular. Essas células tinham o citoplasma abundante, núcleos redondos ou ovalados, vesiculosos, com a cromatina dispersa. Algumas células eram binucleadas e outras tinham um grande vacúolo citoplasmático empurrando o núcleo para a periferia (morfologia de células em anel de sinete) (Fig.14). As figuras de mitose eram raras. Ocasionalmente observaram-se estruturas císticas preenchidas por células neoplásicas semelhantes às descritas para as áreas papilíferas, porém arranjadas em um padrão mais sólido. Nos cistadenocarcinomas eram frequentes as áreas de intensa fibrose peritumoral (contíguas com a parede das cavidades císticas) e intratumoral (muitas vezes como septos conjuntivos), necrose multifocal acentuada, por vezes contendo fendas de colesterol, áreas de hemorragia focalmente extensas, mineralização multifocal leve, infiltrado de macrófagos contendo pigmento granular marrom-dourado (hemossiderina) e depósitos irregulares de material cristalóide amarelo-ouro (hematoidina).

Metástases dos cistadenocarcinomas foram observadas no fígado e baço (cão 4) e em múltiplos órgãos e tecidos no cão 10. Neste último cão, a massa fibrosa no omento e a cápsula fibrosa na qual ele estava transformado (e que envolvia todo o intestino) eram constituídas por abundante tecido conjuntivo fibroso (interpretado como reação desmoplásica esquirrosa), bem vascularizado e entremeado por células epiteliais metastáticas moderadamente pleomórficas, incluindo células em anel de sinete. Metástases também foram observadas na serosa esofágica, na pleura costal, na pleura parietal e na cápsula hepática.

Os nódulos cutâneos eram constituídos por acúmulos de colágeno maduro, geralmente disposto em fibras espessas e entremeadas por poucos fibrócitos (Fig.15). Nos nódulos dérmicos, essa redundância do colágeno era observada em meio aos anexos cutâneos que estavam morfológicamente normais ou observavam-se folículos pilosos dilatados e com ceratose. Na derme, os limites desses nódulos eram pouco perceptíveis em relação ao colágeno normal adjacente. Entretanto, no subcutâneo, os nódulos colagenosos eram bem delimitados em meio ao tecido adiposo. Os nódulos cutâneos e subcutâneos foram interpretados como dermatofibrose nodular. A epiderme estava acantótica e com hiperkeratose ortoceratótica, ou ulcerada em alguns nódulos. Infiltrado inflamatório mononuclear era visto ocasionalmente.

Na parede do corpo uterino do cão 8 havia áreas bem delimitadas e não encapsuladas de proliferação neoplásica de células fusiformes, que se organizavam em feixes densos; eram bem diferenciadas e semelhantes às células de músculo liso. O citoplasma era alongado, abundante e eosinofílico. O núcleo era alongado e formado por cromatina moderadamente agregada. Os nucléolos eram únicos e pouco perceptíveis. Os neoplasmas foram interpretados como leiomiomas.

### **Aspectos histoquímicos e imuno-histoquímicos**

Por meio da coloração de TM, foi possível evidenciar melhor as áreas fibrosas e acentuadamente colagenizadas, principalmente circundando e entremeando os cistadenocarcinomas renais (casos 1, 4, 6-8, 10, 11) e as áreas de fibrose leve, circundando principalmente os cistadenomas (casos 3 e 5). Seções sequenciais desses casos foram coradas pelo PR e observadas sob luz polarizada. Observou-se que as áreas de fibrose, independentemente do grau de severidade, eram compostas por colágeno do tipo 1. Semelhantemente, nas áreas de dermatofibrose nodular, na coloração de TM as fibras colágenas coraram-se fortemente em azul (Fig.16) e, pelo PR, constatou-se que se tratava de colágeno tipo 1 (Fig. 17).

Quando a técnica de IHQ foi utilizada em seções de rim utilizando-se o anticorpo anti-pancitocerotina, observou-se imunomarcção irregular ou ausente das células epiteliais dos cistos e dos neoplasmas. As células mais fortemente imunomarcadas foram observadas em áreas de cistadenocarcinoma em padrão mais sólido no cão 10 (Fig.18), bem como na metástase para o omento neste caso.

### **DISCUSSÃO**

A idade dos 11 cães afetados, bem como a média de idade foram muito semelhantes ao observado em outro estudo, considerado como a primeira descrição patológica detalhada desta síndrome hereditária em 43 cães Pastor Alemão (Lium & Moe 1985). Estabeleceu-se uma relação macho:fêmea de 2,67:1 nos 11 cães deste estudo. A maioria dos relatos sugere uma predominância do sexo masculino, numa relação de 2:1 (Meuten & Meuten 2017). Vale ressaltar que dos 379 cães Pastor Alemão necropsiados no período estudado, 54,89% eram machos e 45,11% eram fêmeas.

O reconhecimento clínico da síndrome CR-DN nem sempre é fácil. Baseado nos históricos clínicos, somente dois casos tinham simultaneamente a observação de doença do trato urinário e de lesões cutâneas compatíveis com a síndrome (Lium & Moe 1985). Seis casos tinham sinais indicativos somente de doença do trato urinário (ou de suas consequências) e dois cães tinham somente a observação de nódulos cutâneos (talvez a doença renal não tinha ainda se manifestado nesses casos). Sinais clínicos inespecíficos, confundíveis com outras doenças, podem ser fatores que dificultem a suspeita clínica da síndrome CR-DN, sendo o diagnóstico muitas vezes estabelecido somente no momento da necropsia e exame histopatológico.

Oito cães tinham alguns sinais indicativos de doença do trato urinário (hematúria, retenção urinária, azotemia e/ou massas na região renal), porém outros tinham somente alterações secundárias à doença renal crônica (emagrecimento progressivo, dispneia, anorexia, vômito, polidipsia ou anemia). Sinais clínicos semelhantes foram observados em um estudo com 51 cães com a síndrome onde a polidipsia e a hematúria (macroscópica) foram descritas em 25% dos casos. Em 22% dos cães observaram-se sinais clínicos graves, incluindo depressão, febre e anorexia. Dois terços desses cães tinham peritonite (estéril) devido à ruptura de cistos renais. Dor e dispneia foram causadas por peritonite (resultante da ruptura dos cistos) e/ou metástases (Moe & Lium 1997).

Em apenas quatro casos havia descrição de nódulos cutâneos nos históricos clínicos e no cão 3, nódulos cutâneos recidivantes foram a razão para a consulta, apesar de terem sido detectados na necropsia dos 11 cães estudados. As lesões cutâneas foram a principal razão para os proprietários levarem seu cão para a consulta em 37% dos casos em um estudo de 51 cães com a síndrome CR-DN (Moe & Lium 1997). No presente estudo, pode-se depreender pela descrição da necropsia que, em alguns cães, talvez por serem em pequeno número ou múltiplos, mas muito pequenos em meio à pelagem longa, os nódulos não foram detectados ou mencionados clinicamente. As lesões cutâneas foram mais frequentes nos membros, cabeça e tronco, em ordem decrescente de frequência, neste levantamento. Em outro estudo (de 51 cães), a localização mais frequente foi nos membros e na cabeça e os autores ressaltaram que os nódulos muitas vezes eram difíceis de serem observados (Moe & Lium 1997).

Quanto às alterações renais na necropsia, as principais características foram a bilateralidade das lesões, a presença de múltiplos cistos de diferentes tamanhos e de massas neoplásicas contidas em cavidades císticas, geralmente necróticas, destrutivas e com hemorragia ou, ocasionalmente, como massas sólidas. Os cistos e as massas neoplásicas muitas vezes aumentavam os rins de tamanho e alteravam completamente a sua forma. Essas mesmas características são descritas em outros estudos desta síndrome (Lium & Moe 1985, Moe & Lium 1997) e foram consideradas como indicativas de origem multicêntrica primária (Lium & Moe 1985). As lesões neoplásicas observadas na síndrome CR-DN diferem

das formas esporádicas de carcinomas renais, os quais geralmente são unilaterais e solitários, com metástases eventuais para o rim contralateral (Lucke & Kelly 1976, Baskin & De Paoli 1977, Lium & Moe 1985, Meuten & Meuten 2017).

A presença simultânea de cistos e a natureza cística dos neoplasmas desta síndrome são distintos de outros tumores renais descritos em cães (Meuten & Meuten 2017). Os cistos renais aumentam de tamanho com a idade do cão e também parece haver uma tendência à transformação maligna das lesões renais com o avanço da idade em cães predispostos à síndrome (Lium & Moe 1985). Cistos podem ser a lesão inicial desta doença e eles parecem progredir através de etapas de hiperplasia, adenomas e adenocarcinomas (Meuten & Meuten 2017). Em vários casos aqui estudados observou-se a presença de cistos pequenos e das etapas intermediárias (hiperplasia e/ou cistadenoma) deste *continuum* patológico até chegar em cistadenocarcinoma. Somente em dois casos a lesão mais avançada foi descrita como cistadenoma, sem evidências morfológicas de malignidade intratumoral. A progressão do *continuum* patológico (de cistos até cistadenocarcinoma) seria influenciada por fatores genéticos, sendo os cistos de cães Pastor Alemão puros de certas linhagens propensos à transformação maligna mais rapidamente (White et al. 1998).

De acordo com a classificação histológica de tumores mesenquimais da pele e tecidos moles de animais domésticos, da Organização Mundial da Saúde (Hendrick et al. 1998), a dermatofibrose nodular tem sido considerada como parte de uma síndrome rara, descrita principalmente em cães Pastor Alemão (mas podendo ocasionalmente acometer outras raças), onde múltiplos nódulos fibrosos são observados na derme e subcutâneo. De acordo com essa classificação, essas lesões são diferenciadas histologicamente de hamartomas colagenosos por não estarem limitadas à derme superficial e por terem anexos cutâneos normais ou hiperplásicos dentro do colágeno redundante. Diferenciam-se também de fibromas, que são neoplasmas benignos de fibrócitos maduros produzindo colágeno abundante, onde as fibras são arrançadas em fascículos entrelaçados ou, menos frequentemente, em redemoinhos. Todos os cães deste estudo tinham nódulos cutâneos predominantemente múltiplos nos membros, e também na cabeça ou tronco. Esta distribuição também foi observada em estudos com maior número de casos em Pastores Alemães (Lium & Moe 1985, Moe & Lium 1997) e também em cães de outras raças (Marks et al. 1994, White et al. 1998, Meuten & Meuten 2017, Serakides & Silva 2017).

Chamam a atenção nesta síndrome, a lesão colagenosa na pele e a reação desmoplásica fibrosante nos neoplasmas renais. Através dos dois métodos histoquímicos (TM e PR) utilizados neste estudo foi possível observar que em ambas as lesões o colágeno era denso e com características tintoriais indicativas do tipo I. Esse tipo de colágeno é considerado como maduro (Junqueira et al. 1979) e sua presença em reações desmoplásicas tumorais tem sido estudada em outros tipos de carcinomas, incluindo carcinomas de células escamosas (CCEs) esofágicos em bovinos (Faccin et al. 2017) e em adenocarcinomas ductais pancreáticos em humanos (Armstrong et al. 2004, Shields et al. 2011). O papel atribuído ao colágeno na reação desmoplásica tem sido um pouco contraditório, indo desde funcionar como barreira para a invasão tumoral até uma associação de sua maior expressão com um pior prognóstico e aumento da metastatização em neoplasias de humanos (Shields et al. 2011). O colágeno tipo I foi associado com a proliferação de células neoplásicas em câncer pancreático de humanos e observou-se também que a reação desmoplásica, por meio do colágeno, promoveu um fenótipo maligno das células neoplásicas, resultando em pior prognóstico para o hospedeiro (Armstrong et al. 2004). A observação de marcada reação desmoplásica acentuadamente colagenizada (por colágeno tipo I) nos cistadenocarcinomas renais contrastou com a reação fibrosa leve nos cistadenomas deste estudo, despertando para a necessidade de estudos adicionais que explorem a existência ou não de um papel prognóstico dessa reação intratumoral na síndrome CR-DN.

Várias teorias de patogênese para as lesões renais e cutâneas na síndrome CR-DN têm sido postuladas. White et al. (1998), ao estudar a síndrome CR-DN em cães de outras raças, resumiu essas teorias da seguinte forma. Uma hipótese é que a dermatofibrose é uma síndrome paraneoplásica secundária à neoplasia renal. A outra teoria postula que se trate de duas doenças diferentes, as quais surgem de forma independente, unidas por um mecanismo hereditário comum. Considerando a fibrose vista na avaliação histológica dos rins dos casos estudados por eles, os autores propuseram uma teoria de início concomitante da fibrose na pele e no rim; a fibrose renal causaria obstrução ao fluxo dos túbulos, com consequente expansão e eventual formação de cistos nos túbulos renais. Nos casos aqui estudados a fibrose parecia estar associada principalmente com os neoplasmas e talvez não estivesse associada com a gênese dos cistos por mecanismos obstrutivos.

Somente uma das três cadelas deste levantamento teve leiomiomas uterinos. Estes também são frequentemente descritos em cadelas acometidas pela síndrome CR-DN (Lium & Moe, 1985, Moe & Lium 1997). Entretanto, um mecanismo patogênico para esse neoplasma concomitante ainda não foi proposto.

Vale salientar que em sete casos observou-se substituição quase total do parênquima renal por cistos e massas neoplásicas císticas e necróticas, no entanto, somente dois cães tiveram lesões extra-renais de uremia na necropsia, seria de se esperar um número mais elevado de cães com insuficiência renal e, conseqüentemente, com lesões urêmicas. Em um estudo de 43 cães Pastor Alemão com a síndrome CR-DN, uremia só foi observada em dois casos (Lium & Moe 1985). A ausência de lesões extra-renais de uremia em um maior número de casos é um achado intrigante, considerando-se a alteração morfológica renal acentuada observada na grande maioria dos rins deste estudo.

Na literatura consultada, ainda não foi estabelecido um painel imuno-histoquímico específico para as células epiteliais que compõem os cistos e os neoplasmas epiteliais renais desta síndrome. Para os carcinomas renais de ocorrência esporádica (fora da síndrome CR-DN), sabe-se que a marcação dupla para citoceratina e vimentina, para uromodulina, PAX8, napsina A e neprilisina confirma a origem do tumor como de células renais (Meuten & Meuten 2017). Nos casos aqui estudados, a imunomarcaçã para pancitoceratina não foi constante em todos os casos. Estudo imuno-histoquímico em cães jovens e com lesões iniciais da síndrome CR-DN demonstrou forte marcação para citoceratinas (de amplo espectro) no epitélio que revestia os cistos renais nos cães testados, indicando que o epitélio tinha uma origem tubular distal ou de ductos coletores, porque as células tubulares epiteliais distais normais apresentaram forte marcação para citoceratina, enquanto as células tubulares proximais normais apresentaram marcação fraca, quando houve (Moe et al. 2000).

### CONCLUSÕES

Este estudo permitiu estabelecer a prevalência e as principais características clínico-epidemiológicas e morfológicas da síndrome CR-DN. Permitiu perceber que seu reconhecimento clínico nem sempre é fácil, porém suas características peculiares (neoplasmas renais e dermatofibrose nodular), vistas nas avaliações macroscópicas e microscópicas permitem um diagnóstico morfológico com segurança. Foi possível detectar todas as fases de um possível *continuum* patológico das lesões renais. Através das técnicas histoquímicas foi possível estabelecer que o colágeno tipo I está presente em ambas as lesões, cutâneas e renais, e cogitar seu possível envolvimento na patogênese dos cistadenocarcinomas renais. A técnica de IHQ mostrou resultados parcialmente satisfatórios na imunomarcaçã das células epiteliais dos cistos e dos neoplasmas renais para pancitoceratina.

### AGRADECIMENTO

Agradecimento à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro. R.P.M. Thompson é bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). E.C. Lamego é bolsista de iniciaçã científica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). S.M.P. Melo é bolsista de iniciaçã científica do CNPq. G.D. Kommers é Bolsista de Produtividade do CNPq.

### REFERÊNCIAS

- Armstrong T., Packham G., Murphy L.B., Bateman A.C., Conti J.A., Fine D.R., Johnson C.D., Benyon C. & Iredale J.P. 2004. Type I collagen promotes the malignant phenotype of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.* 10:7427-7437.
- Baskin G.B. & De Paoli A. 1977. Primary renal neoplasms of the dog. *Vet. Pathol.* 14(6):591-605.
- Bonsdorff T.B., Jansen J.H., Thomassen R.F. & Lingaas F. 2009. Loss of heterozygosity at the FLCN locus in early renal cystic lesions in dogs with renal cistadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis. *Mamm. Genome* 20:315-320.
- Breshears M.A. & Confer A. W. 2017. O Sistema Urinário, p.617-681. In: Zachary J.F. (Ed), *Pathology Basis of Veterinary Disease*. 6ª ed. Elsevier, St. Louis.
- Cianciolo R.E. & Mohr F.C. 2016. Urinary system, p.376-464. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N.C. *Pathology of Domestic Animals*. Vol.1. 6ª ed. Elsevier, St. Louis.
- Faccin T.C., Masuda E.K., Piazer J.V.M., Melo S.M.P. & Kommers G.D. 2017. Annular stenotic oesophageal squamous cell carcinoma in cattle exposed naturally to bracken fern (*Pteridium arachnoideum*). *J. Comp. Path.* 157:174-180.
- Figuera R.A., Souza T.M., Silva M.C., Brum J.S., Graça D.L., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2008. Causas de morte e razões para eutanásia de cães. *Pesq. Vet. Bras.* 28:223-230.
- Hendrick M.J., Mahaffey E.A., Moore F.M., Vos J.H., Walder E.J. 1998. *Histological Classification of Mesenchymal Tumors of Skin and Soft Tissues of Domestic Animals*. Vol. 2. 2ª ed. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, p.01-64.
- Inkelmann M.A., Kommers G.D., Trost M.E., Barros C.S.L., Figuera R.A., Irigoyen L.F. & Silveira I.P. 2012. Lesões do Sistema urinário em 1.063 cães. *Pesq. Vet. Bras.* 32(8):761-771.

- Junqueira L.C.U, Bignolas G. & Brentani R.R. 1979. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem. J.* 11:447-455.
- Langohr I.M., Irigoyen L.F., Salles M.W.S., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2002. Cistadenocarcinoma renal e dermatofibrose nodular em cães Pastor Alemão: 4 casos. *Ciênc. Rural* 32(4):621-626.
- Lingaas F., Comstock K.E., Kirkness E.F., Sorensen A., Aarskaug T., Hitte C., Nickerson M.L., Moe L., Schmidt L.S., Thomas R., Breen M., Galibert F., Zbar B. & Ostrander E.A. 2003. A mutation in the canine BHD gene is associated with hereditary multifocal renal cystadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis in the German Shepherd Dog. *Hum. Mol. Genet.* 12:3043-3053.
- Lium B. & Moe L. 1985. Hereditary multifocal renal cystadenocarcinomas and nodular dermatofibrosis in the German Shepherd dog: macroscopic and histopathologic changes. *Vet. Pathol.* 22:447-455.
- Lucke V.M & Kelly D.F. 1976. Renal carcinoma in the dog. *Vet. Pathol.* 13:264-276.
- Marks L. Farmacn A. & Peastoon. 1993. Nodular dermatofibrosis and renal cystadenomas in a Golden Retriever. *Vet. Dermatol.* 4:133-137.
- Meuten J.D. & Meuten T.L.K. 2017. Tumors of the urinary system, p.632-688. In: Meuten D.J. (Ed.), *Tumors in Domestic Animals*. 5<sup>a</sup> ed. Wiley-Blackwell, Ames.
- Moe L. & Lium B. 1997. Hereditary multifocal renal cystadenocarcinomas and nodular dermatofibrosis in 51 German Shepherd dogs. *J. Small Anim. Pract.* 38(11):498-505.
- Moe L., Gamlem H., Jonasdottir T.J., & Lingaas F. 2000. Renal microcystic tubular lesions in two 1-year-old dogs an early sign of hereditary renal cystadenocarcinoma? *J. Comp. Pathol.* 123:218-221.
- Pressler B.M., Williams L.E., Ramos-Vara J.A. & Anderson K. 2009. Sequencing of the Von Hippel-Lindau gene in canine renal carcinoma. *J. Vet. Intern. Med.* 23:592-597.
- Serakides R. & Silva J.F. 2017. Sistema urinário, P267-309. In: Santos R.L. & Alessi A.C., *Patologia Veterinária*. 2<sup>a</sup> ed. Guanabara Koogan Ltda, Rio de Janeiro.
- Shields M.A., Dangi-Garimella S., Krantz S.B., Bentrem D.J., Munshi H.G. 2011. Pancreatic cancer cells respond to type I collagen by inducing snail expression to promote membrane type 1 matrix metalloproteinase-dependent collagen invasion. *J. Biol. Chem.* 286:10.495-10.504.
- Suter M., Lott-Stolz G. & Wild P. 1983. Generalized nodular dermatofibrosis in six Alsations. *Vet. Pathol.* 20:632-634.
- White S.D., Rosychuk R.A.W., Schultheiss P. & Scott K.V. 1998. Nodular dermatofibrosis and cystic renal disease in three mixed breed dogs and a Boxer dog. *Vet. Dermatol.* 9:119-126.
- Whittaker P., Kloner R.A., Boughner D.R. & Pickering J.G. 1994. Quantitative assessment of myocardial collagen with picrosirius red staining and circularly polarized light. *Basic Res. Cardiol.* 89:397-410.

## LEGENDAS

Fig.1.A. Cistadenocarcinoma renal. Cão 9. O rim está acentuadamente aumentado de tamanho com o parênquima distorcido por massas císticas pequenas subcapsulares. A parede dos cistos é espessa.

Fig.1.B. Cistadenocarcinoma renal. Cão 9. O rim está acentuadamente aumentado de tamanho com o parênquima distorcido por massas císticas subcapsulares de vários tamanhos. A parede dos cistos é espessa.

Fig.1.C. Cistadenocarcinoma renal. Cão 9. Ao corte, observam-se múltiplos cistos contendo formações neoplásicas, por vezes necróticas. Há pouco parênquima renal remanescente.

Fig.1.D. Cistadenocarcinoma renal. Cão 10. Ao corte, há um cisto de aproximadamente 3 cm de diâmetro localizado na região córtico-medular do polo cranial com parede fibrosa e formações císticas menores adjacentes.

Fig.1.E. Cistadenocarcinoma renal. Cão 8. Rim, ao corte observam-se múltiplas formações císticas com conteúdo vermelho-escuro, poroso e extremamente friável, e algumas porções sólidas firmes e brancacentas.

Fig.1.F. Cistadenocarcinoma renal Cão 8. Rim, ao corte observam-se múltiplas formações císticas com conteúdo amarronzado, poroso e extremamente friável, e algumas porções sólidas firmes e brancacentas. Na seta, observa-se cápsula fibrosa, espessa e brancacenta.

Fig.2.A. Dermatofibrose nodular. Cão 9. Pele, na face cranial dos membros pélvicos há múltiplos nódulos, bem próximos uns de outros, por vezes coalescendo e formando massas maiores, e que ocasionalmente estão ulceradas (seta).

Fig.2.B. Dermatofibrose nodular. Cão 9. Na face cranial do membro anterior há múltiplos nódulos, sendo que o maior deles tem áreas de ulceração e despigmentação.

Fig.2.C. Dermatofibrose nodular. Cão 11. Pele, ao corte observa-se um nódulo brancacento, firme que se estende da derme superficial até a derme profunda.

Fig.2.D. Dermatofibrose nodular. Cão 9. Pele, na superfície de corte observa-se um nódulo firme, brancacento que se localiza estritamente no tecido subcutâneo.

Fig.2.E. Leiomioma uterino. Cão 8. Na serosa do corpo uterino há múltiplos nódulos, lisos e brancacentos.

Fig.2.F. Intestino. Cão 10. Há uma massa constituída por intestino plissado (asterisco), envolto por uma cápsula fibrosa (seta), que corresponde ao omento com metástase de cistadenocarcinoma.

Fig.3.A. Rim. Área focalmente extensa com formação de cistos caracterizados por parede com uma única camada de células. Nas setas, há duas áreas com início de hiperplasia. HE. 20x.

Fig.3.B. Rim. Proliferação de células epiteliais neoplásicas formando projeções papilíferas. Nas setas, há células neoplásicas binucleadas e, no asterisco, uma célula em anel de sinete (citoplasma vacuolizado), características de um cistoadenocarcinoma renal. HE. 40x.

Fig.3.C. Pele. Proliferação de fibras de colágenas na derme superficial e profunda (não vista na foto) e diminuição dos anexos cutâneos. Na epiderme observa-se hiperplasia irregular com hiperkeratose ortoceratótica moderada. HE. 10x.

Fig.3.D. Pele. Há proliferação de fibras colágenas na derme superficial e profunda (não vista na foto) coradas em azul pela técnica de Tricrômico de Masson. Na epiderme observa-se hiperplasia irregular da epiderme com hiperkeratose ortoceratótica moderada e ceratose dos folículos pilosos remanescentes. TM. 10x.

Fig.3.E. Pele. Mesma seção da figura 3.D, mostrando fibras colágenas espessas alaranjadas na derme, características de colágeno tipo I. PR.10x.

Fig.3.F. Rim. Há imunomarcção positiva para pancitoceratina das células epiteliais de um cistadenocarcinoma. IHQ. Método por polímero-HRP. 40x.

**Quadro 1. Aspectos epidemiológicos e clínicos de 11 cães Pastor Alemão com a síndrome cistadenoma/cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular**

Casos	sexo	Idade (anos)	Sinais clínicos	Desfechos
1	M <sup>a</sup>	10	Hematúria; retenção urinaria; vesícula urinária rígida e dilatada; edema dos MPsb.	ME <sup>c</sup>
2	M	7	Emagrecimento progressivo (1 mês); tosse e dispneia; anorexia (3 dias) e vomito (1 dia).	ME
3	M	8	Com numerosos nódulos cutâneos (2 anos). Foram feitas as biopsias três vezes (resultados não informados) e houve recidivas. Sem outros sinais clínicos.	EUT <sup>d</sup>
4	M	6	Polidipsia e dispneia; morreu após 3 horas	ME
5	F <sup>e</sup>	6	Anorexia; icterícia. Exames: hemograma normal; ALT: subiu de 750 para 1195 (em 2 dias). Raio-x: massa na região renal.	EUT
6	M	Adulto	Nódulos cutâneos na cabeça e nos membros	ME
7	M	9	Vômito; encontrado caído e com dispneia; pequenos nodulos cutâneos firmes nas patas e na cabeça. Massa comprimindo o cólon.	ME
8	F	9	Cistite e hematúria (1 ano). Emagrecimento acentuado e anemia grave. US: observou-se uma massa no rim. Anorexia. Foi encontrada morta.	ME
9	M	12	Tumorações cutâneas que recidivavam constantemente (3 anos). Incoordenação motora posterior. Desenvolveu hematúria, sendo diagnosticada cistite hemorrágica; sem resposta ao tratamento.	EUT
10	M	8	Emagrecimento progressivo; polidipsia; elevação da ureia e creatinina. US: líquido na cavidade abdominal e no tórax; alteração no rim esquerdo e segmentos intestinais plissados. Celiotomia exploratória: múltiplos órgãos alterados e grande quantidade de líquido no abdômen.	EUT
11	F	12	Encontrado morto.	ME

<sup>a</sup>M: macho; <sup>b</sup>MPs: membros posteriores; <sup>c</sup>ME: morte espontânea; <sup>d</sup>EUT: eutanásia; <sup>e</sup>F: fêmea.

**Quadro 2. Aspectos macroscópicos das lesões renais em 11 cães Pastor Alemão com a síndrome cistadenoma/cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular**

<b>Casos</b>	<b>Tamanho/peso dos rins e das lesões renais císticas</b>	<b>Conteúdo dos cistos/cavidades císticas</b>
1	RD <sup>a</sup> (30x22x7 cm; com cavidades císticas de 5 a 15 cm de diâmetro) RE <sup>b</sup> (com nodulações de 4x6 cm e 2x3 cm nos pólos)	Líquido marrom-avermelhado
2	RD (16x12 cm; com cavidades císticas) RE (19x12 cm; com cavidades císticas)	Líquido marrom-avermelhado/límpido
3	Ambos (com cistos de 0,1 a 0,5 cm de diâmetro)	Líquido límpido
4	RD (com cavidades císticas de 0,5 a 1,8 cm de diâmetro) RE (com cavidades císticas de 0,3 a 1,5 cm de diâmetro)	Coágulo
5	RD (3x o tamanho normal; com cistos de 3 a 6 cm de diâmetro) RE (com cistos de 1 a 3 cm de diâmetro)	Coágulo
6	Ambos (aumentados de volume; com cistos de poucos mm a 3 cm de diâmetro)	Líquido viscoso e límpido
7	Ambos (com cistos de 0,1 a 2 cm de diâmetro)	Líquido marrom-avermelhado/coágulo
8	Ambos (aumentados de tamanho; com cavidades císticas de até 4,5 cm de diâmetro). RD (peso: 1.043g); R,E (peso: 1.020g)	Líquido marrom-avermelhado
9	Ambos (aumentados de tamanho; com cavidades císticas de 3 a 8 cm de diâmetro)	Líquido marrom-escuro
10	RD (com cistos de até 0,2 cm de diâmetro) RE (aumentado de tamanho; com poucos cistos de até 5 cm de diâmetro no pólo cranial)	Líquido límpido
11	Ambos (com cavidades císticas de 0,5 a 3 cm de diâmetro)	Líquido marrom-avermelhado

<sup>a</sup>RD: rim direito; <sup>b</sup>RE= rim esquerdo.

**Quadro 3. Características macroscópicas das lesões cutâneas em 11 cães Pastor Alemão com a síndrome cistadenoma/cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular**

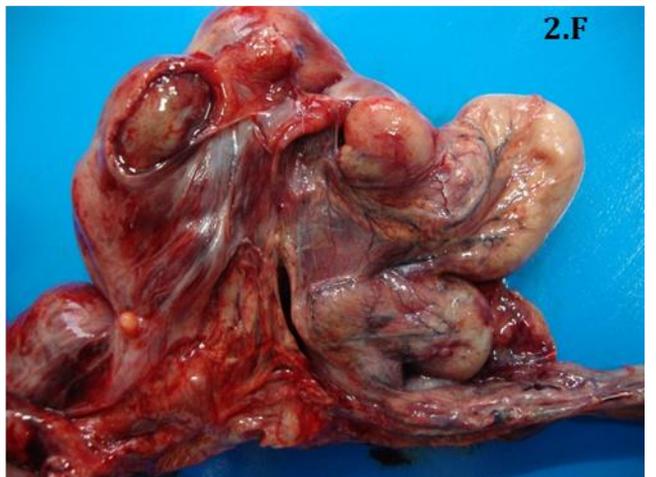
Casos	Quantidade de nódulos	Tamanho	Localização	Ulceração
1	Único	3 cm de diâmetro	MPE <sup>a</sup>	Não
2	Múltiplos	1 cm de diâmetro	MPs <sup>b</sup>	Não
3	Múltiplos	0,2-2 cm de diâmetro	Cabeça (região mentoniana, face e região periocular)/MAs <sup>c</sup> /MPs	Sim
4	Múltiplos	0,3-0,6 cm de diâmetro	MAD <sup>d</sup> (região da ulna)/ Tronco (região escapular)	Sim
5	Múltiplos	0,5-1 cm de diâmetro	MPE	Não
6	Múltiplos	De poucos mm até 5 cm de diâmetro	Cabeça/MAs/MPs	Não
7	Múltiplos	0,2-2 cm de diâmetro	MAs/MPs/cabeça/tronco	Não
8	Múltiplos	0,2-0,6 cm de diâmetro	MAs/MPD <sup>e</sup>	Não
9	Múltiplos	0,6-2 cm de diâmetro	MAD/MPE	Sim
10	Dois	4x2 cm (MAE)/0,5 cm de diâmetro (cabeça)	MAE <sup>f</sup> /cabeça (orelha direita)	Sim
11	Múltiplos	4x2x1 cm (MAD)/ 0,5 cm de diâmetro (MA/MP)	MAs/MPs	Não

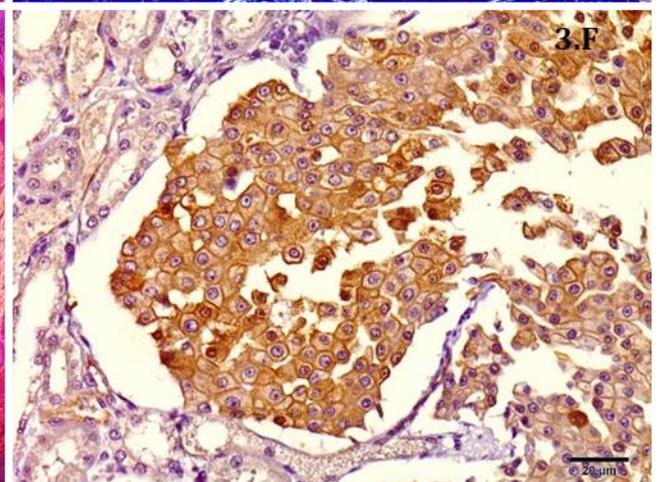
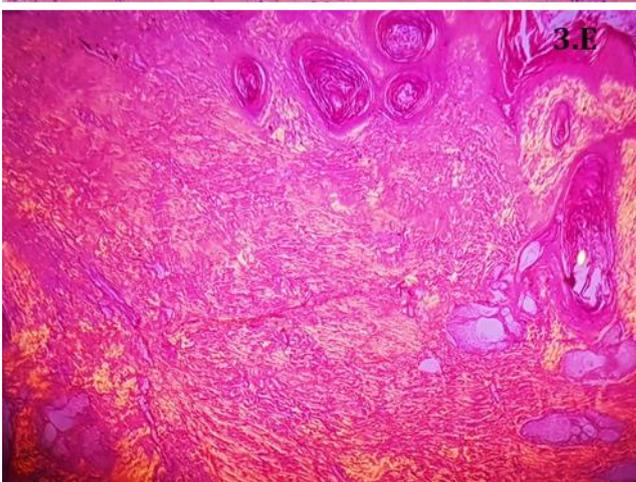
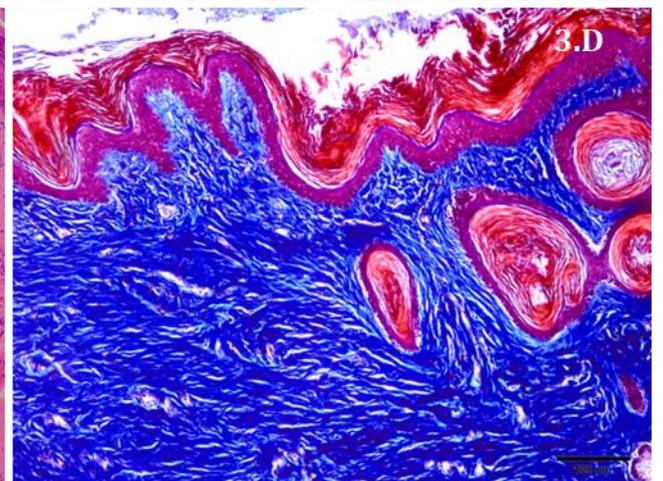
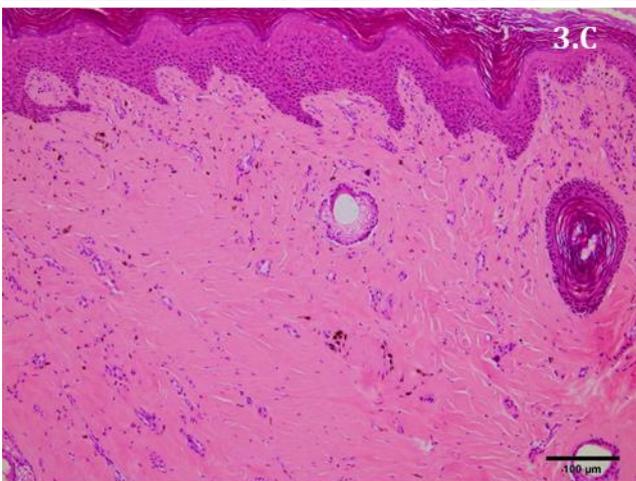
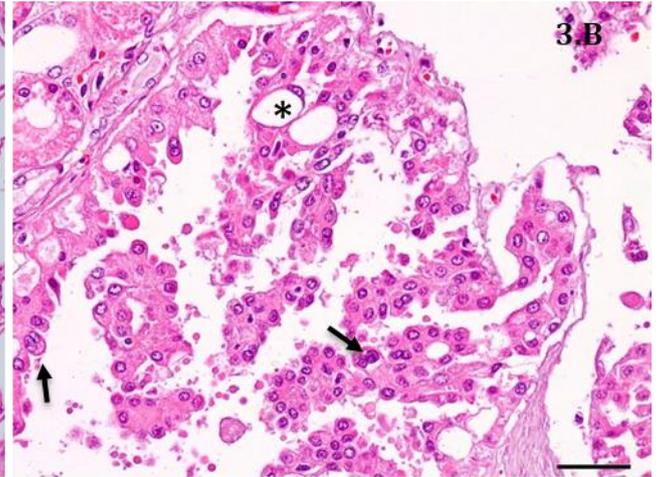
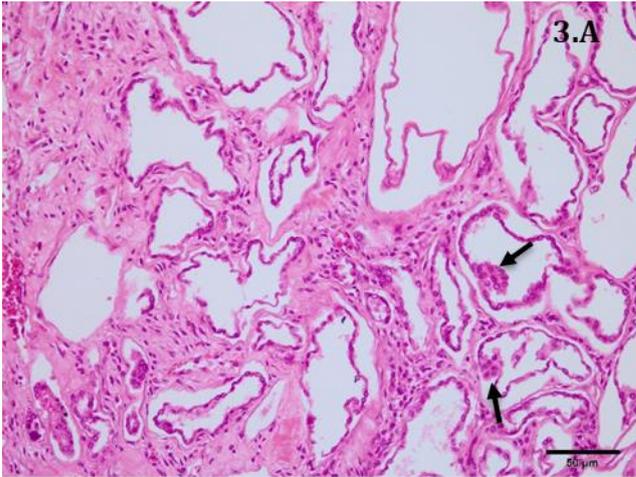
<sup>a</sup>MPE: membro posterior esquerdo; <sup>b</sup>MPs: membros posteriores; <sup>c</sup>MAs: membros anteriores; <sup>d</sup>MAD: membro anterior direito; <sup>e</sup>MPD: membro posterior direito; <sup>f</sup>MAE: membro anterior esquerdo.

**Quadro 4. Aspectos histológicos das lesões renais em 11 cães Pastor Alemão com a síndrome cistadenoma/cistadenocarcinoma renal-dermatofibrose nodular**

Casos	Achados histológicos dos rins
1	Cistos, hiperplasia intratubular papilífera e cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais: fibrose acentuada, necrose, hemorragia, fendas de colesterol, mineralização, pigmento (hematoidina)
2	Cistos, cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais: fibrose acentuada, necrose, hemorragia, fendas de colesterol, mineralização, pigmento (hematoidina)
3	Cistos, hiperplasia intratubular papilífera e cistadenoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais: fibrose leve
4	Cistos, cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais : fibrose leve
5	Cistos, hiperplasia intratubular papilífera e cistadenoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais : fibrose leve
6	Cistos, hiperplasia intratubular papilífera e cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais: fibrose acentuada, necrose, hemorragia, fendas de colesterol, mineralização, pigmentos (hematoidina e hemossiderina)
7	Cistos, hiperplasia intratubular papilífera , cistadenoma e cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais : fibrose acentuada, necrose, hemorragia, fendas de colesterol, mineralização, pigmentos (hematoidina e hemossiderina)
8	Cistos, hiperplasia intratubular papilífera e cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais: fibrose, necrose, hemorragia, fendas de colesterol, mineralização, pigmento (hematoidina)
9	Cistos, cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais: fibrose acentuada, necrose, hemorragia, fendas de colesterol, mineralização, pigmento (hemossiderina)
10	Cistos, cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais: fibrose acentuada, necrose, hemorragia, fendas de colesterol, mineralização, pigmento (hematoidina)
11	Cistos, cistadenocarcinoma Lesões peritumorais e/ou intratumorais: fibrose acentuada, necrose, hemorragia, fendas de colesterol, mineralização, pigmentos (hematoidina)







#### **4 CONCLUSÃO**

Este estudo permitiu estabelecer a prevalência e as principais características clínico-epidemiológicas e morfológicas da síndrome CR-DN. Permitiu perceber que seu reconhecimento clínico nem sempre é fácil, porém suas características morfológicas peculiares vistas nas avaliações macroscópicas e microscópicas permitem um diagnóstico com segurança. Foi possível detectar todas as fases de um possível continuum patológico das lesões renais. Através das técnicas histoquímicas foi possível estabelecer que o colágeno tipo I está presente em ambas as lesões, cutâneas e renais, e cogitar seu possível envolvimento na patogênese dos cistadenocarcinomas renais. A técnica de IHQ mostrou resultados parcialmente satisfatórios na imunomarcção das células epiteliais dos cistos e dos neoplasmas renais para pancitoceratina.

## REFERÊNCIAS

- ARMSTRONG, T. et al. Type I collagen promotes the malignant phenotype of pancreatic ductal adenocarcinoma. **Clin. Cancer Res.**, v. 10, p. 7427-7437, 2004.
- BASKIN, G. B.; DE PAOLI A. Primary renal neoplasms of the dog. **Vet. Pathol.**, v. 14, n. 6, p. 591-605, 1977.
- BONSDORFF, T. B. et al. Loss of heterozygosity at the FLCN locus in early renal cystic lesions in dogs with renal cystadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis. **Mamm Genome**. v 20. p. 315–320. 2009.
- BRESHEARS, M. A.; CONFER, A. W. **O Sistema urinário**, p.617-681. In: Zachary J.F. (Ed), Pathology Basis of Veterinary Disease. 6ª ed. Elsevier. 2018.
- COSENZA, S. F., SEELY, J. C. Generalized nodular dermatofibrosis and renal cystadenocarcinomas in a German shepherd dog. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 189, p. 1587-1590, 1986.
- CIANCIOLO, R. E.; MOHR, F. C. **Urinary system**, p.376-464. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N.C. Pathology of Domestic Animals. Vol.1. 6ª ed. Elsevier. 2016.
- FACCIN, T. C., et al. Annular stenotic oesophageal squamous cell carcinoma in cattle exposed naturally to bracken fern (*Pteridium arachnoideum*). **J. Comp. Path.** v. 157, p.174-180, 2017.
- GARDINER, D. W.; SPRAKER, T. R. Generalized nodular dermatofibrosis in the absence of renal neoplasia in an Australian cattle dog. **Vet. Pathol.**, v. 45, p. 901-904, 2008.
- FIGHERA, R. A., et al. Causas de morte e razões para eutanásia de cães. **Pesq. Vet. Bras.** v.28, p.223-230, 2008.
- HENDRICK, M. J., et al. **Histological Classification of Mesenchymal Tumors of Skin and Soft Tissues of Domestic Animals**. p. 01-64. Vol. 2. 2ª ed. Armed Forces Institute of Pathology, 1998.
- INKELMANN, M. A., et al. Lesões do Sistema urinário em 1.063 cães. **Pesq. Vet. Bras.** v. 32, n. 8, p. 761-771, 2012.
- JONASDOTTIR, T. J. et al. Genetic mapping of a naturally occurring hereditary renal cancer syndrome in dogs. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 97, p. 4132-4137, 2000.
- JUNQUEIRA, L. C. U; BIGNOLAS G.; BRENTANI R. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochem. J.** v.11, p.447-455, 1979.

KOBAYASHI, N. et al. Renal collecting duct carcinoma in a dog. **Vet. Pathol.**, v. 45, p.489-494, 2008.

LANGOHR, I. M. et al. Cistadenocarcinoma renal e dermatofibrose nodular em cães Pastor Alemão: 4 casos. **Ciênc. Rural**, v. 32, n.4, p.621-626, 2002.

LETER, E. M. et al. Birt-Hogg-Dubé syndrome: clinical and genetic studies of 20 families. **J. Invest. Dermatol.**, v. 128, p. 45-49, 2008.

LINGAAS, F., et al. A mutation in the canine BHD gene is associated with hereditary multifocal renal cystadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis in the German Shepherd Dog. **Hum. Mol. Genet.**, v. 12, p.3043-3053, 2003.

LIUM, B.; MOE, L. Hereditary multifocal renal cystadenocarcinomas and nodular dermatofibrosis in the German Shepherd dog: macroscopic and histopathologic changes. **Vet. Pathol.**, v. 22, p.447-455, 1985.

LÓPEZ, V. et al. Actualización en el síndrome Birt-Hogg-Dubé. **Actas. Dermosifiliogr.**, p. 1-9, 2011.

LUCKE, V. M; KELLY, D. F. Renal carcinoma in the dog. **Vet. Pathol.**, v. 13, p.264-276, 1976.

MARKS, S. L.; FARMAN, C. A.; PEASTON, A. Nodular dermatofibrosis and renal cystadenomas in a Golden Retriever. **Vet. Dermatol.**, v.4, p.133-137, 1993.

MENKO, F. H. et al. Birt-Hogg-Dubé syndrome: diagnosis and management. **Lancet Oncol.**, v. 10, p. 1199-1206, 2009.

MEUTEN, J. D.; MEUTEN, T. L. K. **Tumors of the urinary system**, p.632-688. In: Meuten D.J. (Ed.), *Tumors in Domestic Animals*. 5<sup>a</sup> ed. Wiley-Blackwell, Ames. 2017.

MOE, L.; LIUM, B. Hereditary multifocal renal cystadenocarcinomas and nodular dermatofibrosis in 51 German Shepherd dogs. **J. Small Anim. Pract.**, v. 38, n.11, p.498-505, 1997.

MOE, L. et al. Renal microcystic tubular lesions in two 1-year-old dogs an early sign of hereditary renal cystadenocarcinoma? **J. Comp. Pathol.**, v. 123, p.218-221, 2000.

PRESSLER, B. M. et al. Sequencing of the Von Hippel-Lindau gene in canine renal carcinoma. **J. Vet. Intern. Med.**, v.23, p.592-597, 2009.

SCHMIDT, L. S. et al. Birt-Hogg-Dubé syndrome, a genodermatosis associated with spontaneous pneumothorax and kidney neoplasia, maps to chromosome 17p11.2. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 69, p. 876-82, 2001.

SERAKIDES, R.; FREITAS, S. J. **Sistema urinário.**, p.265-309. In: Santos, R.L; Alessi, A.C. (Ed.), *Patologia Veterinária*. 2<sup>a</sup> ed. Roca. 2017.

SHIELDS, M. A., et al. Pancreatic cancer cells respond to type I collagen by inducing snail expression to promote membrane type 1 matrix metalloproteinase-dependent collagen invasion. **J. Biol. Chem.**, v.286, p.10.495-10.504, 2011.

SUTER, M., LOTT-STOLZ, G.; WILD P. Generalized nodular dermatofibrosis in six Alsatians. **Vet. Pathol.**, v.20, p.632-634, 1983.

WHITE, S. D. et al. Nodular dermatofibrosis and cystic renal disease in three mixed breed dogs and a Boxer dog. **Vet. Dermatol.**, v. 9, p.119–126, 1998.

WHITTAKER, P. et al. Quantitative assessment of myocardial collagen with picrosirius red staining and circularly polarized light. **Basic Res. Cardiol.**, v.89, p.397-410, 1994.